بهینه‌یابی فرآیند تولید داهی سین‌بیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، کتیرا و اینولین به روش سطح پاسخ (RSM)

تهمینه نیکبخت کشکولی[1]، حسین جوینده[2*]، سعید تهموزی دیده‌بان[3]، وحید سماواتی[3]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۱٦ تاریخ پذیرش: ۹٤/٥/۱۹)

چکیده

داهی یک فراورده‌ی تخمیری شیر سنتی کشور هند است که از نظر ظاهر و قوام مشابه ماست ساده می‌باشد. داهی در مقایسه با ماست اسیدیته‌ی پایین‌تری دارد و بنابراین به نظر می‌رسد که در تولید محصولات پروبیوتیک یا سینبیوتیک موفق‌تر عمل نماید. هدف از این مطالعه بهینه‌یابی فرآیند تولید و ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی داهی سین‌بیوتیک با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) توسط طرح باکس بنکن می‌باشد. اینولین (۲/٥-۰ درصد)، کتیرا (۰/۰٦-۰ درصد) و زمان نگهداری (۱۹-۱ روز) فاکتورهایی بودند که تأثیر آن‌ها بر متغیرهای وابسته مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت بهینه-سازی متغیرها سه صفت میزان سفتی، آب‌اندازی و زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LA-5) به عنوان پاسخ درنظر گرفته شد. در نهایت بر اساس ضریب تبیین کلی (R^2)، ضریب تبیین اصلاح شده و ضریب پراکندگی (CV)، توانایی و برازش مناسب مدل نشان داده شد. مقادیر R^2 در مدل درجه دوم رگرسیونی برای سفتی، آب‌اندازی و شمارش میکروبی در داهی سین‌بیوتیک به ترتیب ۰/۹۹، ۰/۹۱، ۰/۹۸ به‌دست آمد. افزایش در غلظت اینولین و زمان نگهداری باعث بهبود در سفتی و کاهش آب‌اندازی محصول شد. افزایش درصد کتیرا تا غلظت ۰/۰۳ باعث بهبود سفتی گردید، درحالی‌که در غلظت ۰/۰٦ درصد اثری منفی مشاهده شد. افزایش غلظت کتیرا و اینولین بر شمارش پروبیوتیکی محصول تأثیر مثبت و مدت زمان نگهداری تأثیر منفی در این زمینه داشت. براساس نتایج به‌دست آمده از انجام آزمایش بهینه‌سازی، غلظت ۲/٥ درصد اینولین به همراه ۰/۰۳ درصد کتیرا در مدت زمان نگهداری ۱۸ روز به عنوان شرایط بهینه تعیین گردید.

کلید واژگان: اینولین، کتیرا، داهی سین‌بیوتیک، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، خصوصیات فیزیکوشیمیایی

* مسئول مکاتبات: hosjooy@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

۱- مقدمه

داهی یا دادهی محصول سنتی کشور هند و نوعی ماست می‌باشد که از تخمیر لاکتیکی شیر گاو، بوفالو یا مخلوطی از این دو شیر به دست می‌آید. داهی از طریق تخمیر شیر توسط کشت‌های تک‌سویه، یا مخلوطی از سوش‌های باکتری لاکتیک‌اسید و یا از طریق تخمیر لاکتیکی به همراه تخمیر الکلی توسط مخمرها در روشی مشابه با تولید ماست انجام می‌گیرد [۱]. عطر و طعم دلپذیر داهی به دی‌استیل تولیدی از باکتری‌های لاکتیک‌اسید نسبت داده شده است [۲]. تفاوت کمی بین ماست و داهی وجود دارد. در ماست از دو نوع کشت آغازگر به نسبت یک به یک با دمای حدود ۴۳-۵۰°C در مدت زمان اینکوباسیون ۳ تا ٤ ساعت استفاده می‌شود، در حالی‌که در تولید داهی مخلوطی از کشت‌ها در دمای پایین‌تر یعنی ۳۷-۴۲°C و دوره اینکوباسیون طولانی‌تر ۸ تا ۱۵ ساعت مورد نیاز است [۳]. پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که در صورت مصرف در مقادیر کافی دارای اثرات مفید بر سلامت میزبان می‌باشند [٤]. برای تأثیر پروبیوتیک‌ها بر سلامت مصرف‌کننده، باید غلظت این باکتری‌ها در محصول حداقل 10^7-10^6 cfu/gr باشد[۵]. از مزایای پروبیوتیک‌ها می‌توان به تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره و بهبود تعادل میکروبی روده و در نتیجه مهار باکتری‌های پاتوژن و کاهش خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ، بهبود سیستم ایمنی و کاهش سطح کلسترول خون اشاره کرد [٦ و۷] . لازمه بروز آثار مثبت پروبیوتیک‌ها، بقای آن‌ها تا رسیدن به محل اصلی فعالیت‌شان در بدن (روده بزرگ) می‌باشد، بنابراین باید روش-هایی برای حفظ پروبیوتیک‌ها اتخاذ گردد. افزودن پری‌بیوتیک‌ها و همچنین ریزمغذی‌هایی نظیر پپتیدها و اسیدهای آمینه که زمان تخمیر را کاهش داده و بقای پروبیوتیک‌ها را افزایش می‌دهند ازجمله آن‌هاست [۸]. پری‌بیوتیک‌ها، ترکیبات کربوهیدراتی غیرقابل هضم برای انسان هستند که توانایی بهبود رشد یا فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های پروبیوتیک (باکتری‌های روده) که اثرات مفیدی در میزبان به جای می‌گذارند را دارند [۹ و ۱۰]. کتیرا صمغ خشک شده حاصل از نوعی گون از جنس *آستراگالوس*[1] است که مرغوب‌ترین نوع آن در ایران تولید می-شود. این صمغ به لحاظ شیمیایی حاوی دو بخش محلول و نامحلول در آب است که به ترتیب تراگاکانتین و باسورین (تراگاکانتیک اسید) نامیده می‌شوند. صمغ کتیرا توسط سازمان غذا و داروی آمریکا[2] (FDA) به عنوان یک افزودنی غذای سالم[3] (GRAS) طبقه‌بندی شده که می‌توان از آن به عنوان پایدار کننده، امولسیون کننده و قوام دهنده در صنایع غذایی استفاده نمود [۱۱]. اینولین در طبیعت به صورت کربوهیدرات ذخیره‌ای در گیاهان، یا به صورت پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی در برخی از میکروارگانیسم‌ها یافت می‌شود [۱۲]. اینولین بدون هیچ گونه تغییری توسط آنزیم‌های موجود در قسمت‌های فوقانی دستگاه گوارش، وارد روده شده و در آن‌جا به‌وسیله آنزیم بتافروکتوزیداز تولید شده توسط پروبیوتیک‌ها تخمیر می‌گردد که نتیجه این تخمیر تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و افزایش توده باکتریایی روده می‌باشد [۱۳]. محصول حاوی پروبیوتیک و پری‌بیوتیک، سین‌بیوتیک نامیده می‌شود [۱۰].

یک متغیر مهم در تولید فرآورده‌های تخمیری، تولید اسیدلاکتیک و کاهش هم‌زمان pH در طول تخمیر است که منجر به جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک می‌شود [۱٤]. گونه‌های باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم* در شرایط دستگاه گوارش (pH =٤) دارای قدرت تحمل اسید بالاتری نسبت به سایر باکتری‌های اسیدلاکتیک می‌باشد [۱۵]. با توجه به دمای اینکوباسیون داهی در محدوده اپتیمم رشد *ل. اسیدوفیلوس* و گونه‌های *بیفیدوباکتریوم* و اسیدیته ملایم، این محصول می‌تواند جایگزین مناسب‌تری برای رشد پروبیوتیک‌ها نسبت به ماست باشد. اخیراً نیز تحقیقات زیادی بر استفاده از ترکیبات پری‌بیوتیکی در صنایع لبنی شده است [۱٦ و ۱۷]. همچنین عزیزی‌نیا و همکاران [۱۸] تأثیر صمغ کتیرا و کنسانتره آب پنیر را به عنوان جایگزین چربی بر ماست بدون چربی مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که تفاوت معنی‌داری در بافت و آب‌اندازی ماست تیمار شده با صمغ کتیرا تا ۰/۵ g/L در مقایسه با ماست شاهد وجود ندارد و افزایش غلظت بالاتر از ۰/۵ g/L صمغ کتیرا، باعث ایجاد محصولی با ژل نرم‌تر و آب-اندازی بالاتر می‌شود. رزمخواه و همکاران [۱۹] نیز ضمن افزودن

1. *Astragalus*

2. Food and drug administration
3. Generally recognized as safe

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

صمغ های دانه ریحان و مرو به ماست چکیده، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی آن را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که با افزودن صمغ و افزایش غلظت آن، درصد مواد جامد، میزان آب‌اندازی، نرمی و ویسکوزیته ظاهری نمونه‌ها کاهش یافت. Donkor و همکاران [٢٠] در مطالعه‌ای تأثیر دو نوع پری‌بیوتیک Hi-maize و اینولین را بر رشد و زنده‌مانی دو نوع *ل. اسیدوفیلوس* (LA26, LA10) در ماست هم‌نزده مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد که ترکیبات پری-بیوتیکی باعث تحریک رشد پروبیوتیک‌ها شده است.

هدف اصلی از این مطالعه تولید داهی سین‌بیوتیک حاوی پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* LA-5 و استفاده از اینولین و کتیرا به عنوان پری‌بیوتیک و بهینه‌یابی شرایط تولید با روش سطح پاسخ می‌باشد. همچنین بررسی امکان استفاده صمغ گیاهی و کاملاً طبیعی کتیرا در محصولات سین‌بیوتیک از دیگر اهداف این تحقیق می‌باشد، بویژه با این هدف که بتواند جانشین اینولین به عنوان ترکیب پری‌بیوتیک شناخته شده گردد.

٢- مواد و روش‌ها

٢-١- مواد مصرفی:

شیر خام با ٣/٢ درصد چربی از ایستگاه دامپروی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان تهیه گردید. سویه‌های میکروبی مورد استفاده شامل باکتری‌های آغازگر داهی و کشت تک سویه پروبیوتیکی *ل. اسیدوفیلوس* نوع LA-5 هر دو به صورت خشک شده انجمادی و از نوع DVS از نمایندگی شرکت کریستین هانسن دانمارک تهیه گردید. محیط کشت-MRS[1] حاوی نمک‌های صفراوی از نمایندگی شرکت مرک آلمان خریداری شد. ترکیبات پری‌بیوتیک شامل اینولین (BeneoTM HD، Orafti، Oreye، بلژیک) و کتیرا (گونه *آستراگالوس گوسیپینوس*[2] تهیه شده از گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه شهید بهشتی) بودند.

٢-٢- تهیه محلول‌های هیدروکلوئید کتیرا

کتیرا با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی کاملاً خرد شد و به پودر تبدیل گردید. سپس پودر از صافی با مش ٣٠ گذرانده شد تا پودر نرم و یکنواختی با ذرات ریز حاصل شود. پس از انجام آزمون‌های اولیه مشخص گردید که مخلوط کردن کتیرا با شیر و نگهداری آن به مدت ٢٤ ساعت در یخچال از لحاظ انحلال پذیری و ایجاد بافت نهائی نتیجه بهتری خواهد داد. پودر کتیرا با نسبت ١ به ١٠٠ با شیر پاستوریزه مخلوط شده و به مدت ٢٤ ساعت در یخچال قرار داده شد و به عنوان محلول هیدروکلوئیدی مادر در طول تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. سپس قبل از فرآیند حرارتی شیر، مقادیری از محلول مادر به شیر افزوده شد تا غلظت ٠/٠٣ و ٠/٠٦ درصد کتیرا در محلول نهائی به‌دست آید.

٢-٣- تهیه نمونه‌های داهی سین‌بیوتیک

برای تولید نمونه‌ها شیر، تا دمای ٤٠^{o}C گرم شد و سپس کتیرا و اینولین به عنوان ترکیبات پری‌بیوتیک با غلظت‌های مشخص (جداول ١ و٢) اضافه گردید. در ادامه، شیر به مدت ١٥ دقیقه در دمای ٩٠^{o}C حرارت داده شد [٢]. افزودن استارترهای داهی و باکتری پروبیوتیک به‌طور هم‌زمان در دمای تلقیح ^{o}C ٤٠-٣٩ صورت پذیرفت. پس از گرمخانه‌گذاری در دمای ^{o}C ٣٧ تا رسیدن pH نمونه به حدود ٤/٥، نمونه‌ها از گرمخانه خارج و به سردخانه با دمای ^{o}C ٥ منتقل گردیدند [٣] و یک روز در این دما نگهداری شدند و سپس نمونه‌ها مورد آزمایش قرار گرفتند.

٢-٤- طرح آزمایشی و آنالیز آماری

روش سطح پاسخ (RSM[3]) مجموعه‌ای از تکنیک‌های ریاضی و تجربی مفید برای ایجاد مدل، و برای بهینه سازی فرآیندها حتی درحضور فعل و انفعالات پیچیده است. این روش نه تنها جهت تعیین تعامل بین پارامترها، بلکه در آزمایش‌های تجربی، به منظور کاهش زمان و هزینه‌های کلی به کار می‌رود. همچنین، تکنیکی مفید برای بررسی چندین متغیر ورودی که بر عملکرد و کیفیت ویژگی‌های محصول و یا فرآیند تحت بررسی تأثیر دارند، می باشد. این روش بر پایه روابط ریاضی و آماری جهت مطالعه روابط بین یک یا چند پاسخ (متغیرهای وابسته) و تعدادی از عوامل (متغیرهای مستقل) روشها بنا نهاده شده است. این روش

1. De-Man, Rogosa and Sharp
2. *Astragulas gossipinus*
3. Response Surface Methodology

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

به دلیل استفاده عملی آن در بهینه‌یابی‌ها یک استراتژی کارآمد برای بهینه‌سازی یک فرآیند چند متغیره است. طرح باکس-بنکن[1] طرحی مناسب و با حداقل تعداد آزمون برای پیشنهاد یک رابطه چند جمله‌ای درجه دوم بین متغیرهای مستقل (فاکتورها) و متغیر وابسته (پاسخ) به منظور نشان دادن چگونگی اثر متغیرهای مستقل بر پاسخ می‌باشد [۲۱].

با انجام پیش آزمایشات، محدوده متغیرها با توجه به اهداف مورد نظر یعنی بیشینه نمودن سفتی و شمارش پروبیوتیکی و کمینه نمودن میزان آب‌اندازی تعیین گردید. میزان اینولین (X_1) در محدوده ۲/۵-۰ درصد ، کتیرا (X_2) در محدوده ۰/۰۶-۰ درصد و زمان نگهداری (X_3) در محدوده ۱۹- ۱ روز با نرم افزار دیزاین اکسپرت[2] نسخه ۷ مدل‌سازی شده و شکل‌های سه بعدی جهت بررسی روند تغییرات رسم شدند.

در روش سطح پاسخ برای هر متغیر وابسته مدلی تعریف می‌شود که آثار اصلی و اثرات متقابل احتمالی بین فاکتورها را بر هر ویژگی مورد مطالعه جداگانه بررسی می‌کند. مدل مورد استفاده در این تحقیق رابطه درجه دوم می‌باشد که به صورت زیر نمایش داده می‌شود.

$$Y = \beta_0 + \sum_{j=1}^{k} \beta_j X_j + \sum\sum_{i<j} \beta_{ij} X_j^2 + \sum_{j=1}^{k} \beta_{ij} X_j^2$$

(معادله ۱)

در این معادله Y ویژگی مورد مطالعه، β ثابت مدل، β_jضریب خطی، X_i و X_j متغیرهای مستقل در شکل کد شده، β_{ij} اثر متقابل متغیرها و β_{jj} ضریب درجه دوم متغیرهای مستقل می‌باشد. جدول ۱ متغیرهای مستقل فرآیند و مقادیر آن‌ها را نشان می‌دهد. در این طرح غلظت اینولین با نماد X_1، غلظت کتیرا با نماد X_2 و زمان نگهداری با نماد X_3 و ویژگی سفتی، آب‌اندازی و شمارش پروبیوتیکی به عنوان متغیرهای وابسته در نظر گرفته شدند.

نقشه آزمایشات شامل ۱۷ آزمایش که دارای ۵ نقطه مرکزی می‌باشد در جدول ۲ نشان داده شده است. در واقع نقاط مرکزی روشی برای تخمین و ارزیابی خطای آزمایشات و اندازه‌گیری ضعف برازش است.

۲-۵- فاکتورهای مورد آزمون

۲-۵-۱- سفتی: برای این منظور از دستگاه سنجش بافت[3] (TA.XT.PLUS Micro stable system، ساخت انگلستان)، استفاده شده و نیروی نفوذ پروب استوانه‌ای تا عمق ۱۰ میلی متر با سرعت یک میلی‌متر/ثانیه ثبت گردید. پروب مورد استفاده دارای قطر ۳۶ میلی‌متر و ارتفاع ۳/۵ میلی‌متر بوده و سرعت پروب قبل از تست ۱mm/s، هنگام تست ۱mm/s و سرعت پروب پس از تست ۱۰mm/s تعیین شد. مقدار سفتی نمونه‌های داهی بر حسب گرم نیرو تعیین و گزارش گردید [۲۲].

۲-۵-۲- سنجش آب‌اندازی یا جدا شدن سرم: میزان آب-اندازی نمونه‌ها با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار (مدل ۵۸۰۴R، ساخت آلمان) و مطابق روش Farnsworth و همکاران [۲۳] تعیین گردید. به این ترتیب که میزان ۳۰ گرم از نمونه درون فالکون ۵۰ میلی‌لیتری توزین شد و سپس در دمای ٤ ^oC با دور rpm ۲۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع بالایی جمع آوری، توزین و بر حسب درصد آب اندازی گزارش گردید.

۲-۵-۳- شمارش میکروبی: برای شمارش باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه‌های داهی از محیط MRS agar حاوی ۰/۱۵ درصد نمک‌های صفراوی به روش پورپلیت استفاده گردید [۲٤]. برای این منظور ابتدا رقت‌های مناسبی از نمونه در محلول آب‌نمک استریل تهیه شده و بعد از انجام کشت پلیت‌ها به گرمخانه ۳۷ ^oC درجه منتقل شدند. شمارش کلنی بعد از ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری انجام و برحسب تعداد پرگنه‌ها در گرم نمونه (log cfu/ g) گزارش شد.

1. Box-Benken Design
2. Design Expert
3. Texture analyzer

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

جدول ١ متغیرهای مستقل و سطوح مورد استفاده آن‌ها در طراحی سطح پاسخ

متغیرهای مستقل	نماد ریاضی	کد و سطح مربوطه		
		١	٠	-١
اینولین (٪)	X_1	٠	١/٢٥	٢/٥
کتیرا (٪)	X_2	٠	٠/٠٣	٠/٠٦
زمان نگهداری (روز)	X_3	١	١٠	١٩

جدول ٢ طرح Box-Behnken به‌کار رفته جهت تولید داهی سین‌بیوتیک

آزمون	کتیرا (٪)	اینولین (٪)	زمان نگهداری (روز)
١	٠/٠٣	٢/٥	١
٢	٠/٠٦	١/٢٥	١٩
٣	٠/٠٣	١/٢٥	١٠
٤	٠/٠٣	٢/٥	١٩
٥	٠/٠٣	١/٢٥	١٠
٦	٠/٠٦	٢/٥	١٠
٧	٠/٠٣	١/٢٥	١٠
٨	٠/٠٣	١/٢٥	١٠
٩	٠/٠٣	١/٢٥	١٠
١٠	٠	١/٢٥	١٩
١١	٠	٢/٥	١٠
١٢	٠	٠	١٠
١٣	٠/٠٦	١/٢٥	١٩
١٤	٠	١/٢٥	١
١٥	٠/٠٣	٠	١٩
١٦	٠/٠٣	٠	١
١٧	٠/٠٦	٠	١٠

٢-٦- بررسی صحت مدل‌های برازش شده بر داده‌های تجربی

تجزیه واریانس برای برازش مدل‌های چند جمله‌ای درجه دوم با داده‌های تجربی نشان داد که مدل در سطح اطمینان ٩٩٪ معنی-دار بود (جدول ٣). تأثیر اصلی، خطی، اثرات متقابل و درجه دوم برای هر پاسخ را نیز می‌توان در جدول ٣ مشاهده نمود. تأثیراتی که معنی‌دار نیستند بدون ایجاد اختلالی در مدل، از مدل حذف شدند. مهمترین قسمت در بخش آنالیز واریانس، پارامتری به نام فاکتور عدم برازش[1] می‌باشد، این پارامتر نشان دهنده مناسب بودن یا نامناسب بودن مدل می‌باشد. جدول تجزیه واریانس نشان داد که مقادیر عدم برازش برای تمامی مدل‌های پاسخ در سطح اطمینان ٩٥٪ معنی‌دار نیست. این بدین معنی است که که مدل داده‌های رضایت بخشی را نشان می‌دهد. بنابراین مدل توانسته به خوبی بر داده‌های مورد بررسی برازش شود. این فاکتور همیشه باید بی‌معنی باشد چرا که معنی‌دار بودن عدم برازش نشان دهنده

1. Lack of fit

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

آن است که مدل‌ها در مورد داده‌های تجربی که در معادله رگرسیونی نیامدند مناسب نبوده است [۲۵]. از طرفی ضریب تبیین کلی[1] (R^2) و R^2 تنظیم شده[2] و ضریب پراکندگی[3] (CV) و عدد باقیمانده مجموع مربعات پیش‌بینی شده (PRESS[4]) به منظور بررسی شایستگی مدل محاسبه شدند. ضریب تعیین R^2 به عنوان نسبت تغییرات توصیف شده توسط مدل به تغییرات کل بیان می‌شود که معیاری از درجه تناسب برازش می‌باشد، بنابراین هر چه R^2 به یک نزدیک‌تر باشد قدرت مدل برازش یافته در توصیف تغییرات پاسخ به عنوان تابعی از متغیرهای مستقل بیشتر می‌باشد [۲۵]. چنین می‌توان عنوان کرد که برای یک مدل با برازش خوب، مقدار R^2 بایستی حداقل ۰/۸ باشد [۲۶]. در جدول تجزیه واریانس ملاحظه می‌شود که مقادیر R^2 وR^2 تنظیم شده برای مدل‌ها تغییرات چشمگیری نداشته و نشان می‌دهد که مدل در برگیرنده جملات غیر معنی‌دار نمی‌باشد. با این حال مقدار بالای R^2 همیشه حاکی از آن نیست که مدل رگرسیون مناسب است چرا که اضافه کردن یک متغیر به مدل بدون در نظر گرفتن این‌که آیا متغیر افزوده شده از نظر آماری معنی‌دار است یا نه، همیشه R^2 را افزایش می‌دهد. بنابراین بهتر است که از R^2 تنظیم شده برای ارزیابی مناسب بودن مدل استفاده کرد [۲۱]. همچنین برای این‌که مدل توانایی خوبی برای برازش اطلاعات داشته باشد لازم است که R^2 تنظیم شده دارای بالاترین مقدار باشد. مقدار R^2 برای سفتی، آب‌اندازی و شمارش میکروبی در داهی سین‌بیوتیک به ترتیب ۰/۹۹، ۰/۹۱، ۰/۹۸ به‌دست آمد.

ضریب پراکندگی (CV) که اشاره به پراکندگی نسبی نقاط تجربی از پیش‌بینی‌های مدل دارد، به ترتیب برای سفتی، آب-اندازی و شمارش پروبیوتیک‌ها در داهی سین‌بیوتیک۱/۳۸، ۶/۸۷، ۰/۹۶ می‌باشد. و از آن‌جا که (CV) کمتر از ۱۰ نشان دهنده دقت بالا در آزمایش است [۲۱]، در نتیجه مقدار این فاکتور مورد قبول می‌باشد.

باقیمانده مجموع مربعات پیش‌بینی شده (PRESS)، معیاری از میزان تناسب یک مدل با هر نقطه در طرح می‌باشد [۲۵]. با توجه به جدول تجزیه واریانس مقدار PRESS برای سفتی، آب‌اندازی و شمارش پروبیوتیکی در داهی سین‌بیوتیک ۱۳۶/۳۰، ۱۶۸/۰۵و ۰/۵۴ می‌باشد. همه این پارامترهای آماری قابل اطمینان بودن مدل ارائه شده را نشان می‌دهند.

ضرایب معادله رگرسیونی مدل‌های پیشنهاد شده برای هر پاسخ در جدول ۳ آمده‌اند. نمودارهای سه بعدی به منظور نشان دادن اثر متغیرها بر هر پاسخ، بر اساس دو متغیر و ثابت نگه‌داشتن متغیر دیگر در نقطه مرکزی ارائه شده‌اند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- سفتی: از آن‌جا که میزان سفتی یکی از فاکتور مهم و تأثیرگذار در بافت داهی می‌باشد، این عامل در پذیرش و جلب رضایت مصرف‌کننده بسیار مؤثر است. با توجه به جدول (۳) تأثیر عوامل درجه اول غلظت اینولین (X_1)، غلظت کتیرا (X_2) و زمان نگهداری (X_3) در نمونه‌های داهی سین‌بیوتیک بر فاکتور سفتی در سطح اطمینان ۹۹٪ می‌باشد. در این میان عامل غلظت اینولین و عامل غلظت کتیرا تأثیر کمتری بر تغییرات سفتی داشتند. همچنین نشان داده شده است که عبارت‌های اثرات متقابل غلظت اینولین و کتیرا (X_1X_2)، غلظت اینولین و زمان نگهداری (X_1X_3) در سطح اطمینان ۹۹٪ و غلظت کتیرا و زمان نگهداری (X_2X_3) در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بودند. عبارت‌های درجه دوم غلظت کتیرا (X_2^2)، زمان نگهداری (X_3^2) در سطح اطمینان ۹۹٪ و غلظت اینولین (X_1^2) در سطح ۹۵٪ معنی‌دار بودند. آزمون عدم برازش برای صفت سفتی اندازگیری شده معنی‌دار نبوده و این معنی‌دار نبودن نشان می‌دهد که نقاط به خوبی توسط مدل برازش شده‌اند و می‌توان از مدل برای پیش-گویی مقادیر متغیرهای تابع استفاده نمود. بالا بودن R^2 تنظیم شده در این طرح نشان می‌دهد که عوامل غیر معنی‌داری در مدل مشاهده نشده است. تأثیر هم‌زمان غلظت اینولین و کتیرا بر داهی سین‌بیوتیک با ثابت در نظر گرفتن زمان نگهداری در نقطه مرکزی (۱۰) در شکل ۱ نشان داده شده است. بر این اساس افزایش غلظت کتیرا تا میزان مشخصی (۰/۰۳ درصد) باعث بهبود سفتی نسبت به نمونه داهی پروبیوتیک شد. در حالی‌که در بالاتر از این مقدار اثر منفی روی سفتی نمونه‌ها داشت. این تفاوت را می‌توان به وسیله اختلاف در ریز ساختارهای شبکه پروتئینی توضیح داد؛ افزایش در مقدار صمغ کتیرا باعث ایجاد ساختار باز در شبکه پروتئینی و در نتیجه کاهش سفتی می‌شود [۲۷]. همچنین اینولین به طور معنی‌داری باعث افزایش سفتی بافت نمونه‌ها گردید. در

1. Determination Coefficient
2. Adjusted- R2
3. Coefficient of variation
4. Predicted Residual Sum of Squares

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

شکل ۲ اثر متقابل میزان کتیرا در زمان نگهداری در غلظت ثابت از اینولین در نقطه مرکزی (۱/۲۵٪) و اثر متقابل میزان اینولین و زمان نگهداری در غلظت ثابت از کتیرا در نقطه مرکزی (۰/۰۳٪) نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش میزان اینولین سفتی نمونه‌ها افزایش پیدا می‌کند و این روند افزایشی، طی دوره نگهداری نمونه‌ها بیشتر می‌شود. کتیرا نیز تا حد مشخصی باعث بهبود بافت می‌شود و سپس بر سفتی نمونه‌ها تأثیر منفی می‌گذارد. زمان نگهداری باعث بهبود بافت در نمونه-های تیمار شده با کتیرا می‌شود.

بر طبق آزمون سنجش بافت و آنالیز آماری در طول دوره نگهداری داهی سین‌بیوتیک، بیشترین نیرو جهت ورود پروب به داخل نمونه متعلق به نمونه‌های حاوی ۲/۵٪ اینولین و ۰/۰۳٪ کتیرا در روز ۱۸ می‌باشد، که شبکه ژلی مستحکم‌تری را تشکیل داده‌اند و در نقطه مقابل آن‌ها، نمونه داهی تیمار شده با ۰/۰۶٪ کتیرا بدون اینولین در روز ده دوره نگهداری کمترین سفتی بافت را کسب کرد. قابل ذکر است که ماده خشک و بویژه پروتئین‌ها در سفتی بافت ماست از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد. بالا بودن میزان پروتئین در نمونه‌ها باعث افزایش اتصالات عرضی و به دنبال آن تشکیل شبکه سه بعدی پروتئینی و ساختار ژلی مستحکم‌تر در نمونه تولیدی می‌شود [۲۸]. اینولین نیز در بسیاری از موارد موجب افزایش قوام و سفتی بافت فرآورده تخمیری می-شود از سوی دیگر مطالعات بسیاری نشان داده است که همراه کردن آن با سایر ترکیبات پری‌بیوتیک نتیجه بهتری خواهد داد. همچنین گزارش شده است که سفتی بافت شیر تخمیر شده در حضور اینولین افزایش می‌یابد [۲۹].

جدول ۳ نتایج جدول آنالیز واریانس (ANOVA) مدل برازش یافته بر داده‌های پاسخ در داهی

منبع	درجه آزادی	سفتی			آب‌اندازی			شمارش پروبیوتیک‌ها	
		ضرایب	مجموع مربعات	اندیس P	ضرایب	مجموع مربعات	اندیس P	ضرایب	مجموع مربعات	اندیس P
مدل	۹	۱۲۰/۷۵	۳۷۳۱/۰۳	<۰/۰۰۰۱	۲۶/۲۷	۳۰۹/۹۲	۰/۰۰۴۷	۸/۸۷	۵/۰۲	<۰/۰۰۰۱
خطی										
X_1	۱	۱۲/۴۳	۱۲۳۶/۲۶	<۰/۰۰۰۱	−۲/۷۸	۶۱/۶۶	۰/۰۰۵۵	۰/۱۴	۰/۱۵	۰/۰۰۲۸
X_2	۱	۳/۳۱	۸۷/۷۱	۰/۰۰۰۷	۲/۸۸	۶۶/۳۶	۰/۰۰۴۶	۰/۶۶	۳/۴۹	<۰/۰۰۰۱
X_3	۱	۱۳/۱۳	۱۳۷۹/۶۰	<۰/۰۰۰۱	−۲/۲۶	۴۰/۸۲	۰/۰۱۴۸	−۰/۲۹	۰/۶۸	<۰/۰۰۰۱
اثر متقابل										
X_1X_2	۱	۶/۳۴	۱۶۰/۸۳	۰/۰۰۰۱	−۰/۷۹	۲/۵۰	۰/۴۵۲۷ns	−۰/۲۰	۰/۱۶	۰/۰۰۲۵
X_1X_3	۱	۵/۳۲	۱۱۳/۲۰	۰/۰۰۰۳	۰/۰۱۸	۰/۰۰۰۳	۰/۹۸۶۴ns	۰/۰۳۹	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۳۹۷۶
X_2X_3	۱	۲/۵۹	۲۶/۹۳	۰/۰۱۶۱	۰/۸۶	۲/۹۲	۰/۴۱۸۰ns	−۰/۲۱	۰/۱۸	۰/۰۰۱۷
درجه دوم										
X_1^2	۱	−۲/۱۲	۱۸/۹۰	۰/۰۳۳۳	۲/۴۲	۲۴/۶۴	۰/۰۴۱۰	۰/۲۷	۰/۳۰	۰/۰۰۰۴
X_2^2	۱	−۹/۸۸	۴۱۰/۸۵	<۰/۰۰۰۱	۴/۸۵	۹۹/۱۷	۰/۰۰۱۵	−۰/۰۶۰	۰/۰۱۵	۰/۱۹۷۱ns
X_3^2	۱	۸/۸۳	۳۳۲/۵۹	<۰/۰۰۰۱	−۱/۶۲	۱۱/۰۴	۰/۱۳۸۴ns	−۰/۱۱	۰/۰۵۲	۰/۰۳۳۰
Residual	۷	–	۱۸/۹۵	–	–	۲۷/۶۴	–	–	۰/۰۵۲	–
فقدان تناسب	۳	–	۷/۳۹	۰/۰۵۳۳ns	–	۸/۶۵	۰/۶۴۴۶ns	–	۰/۰۳۲	۰/۲۳۷۸ns
خطای خالص	۴	–	۱۱/۵۶	–	–	۱۸/۹۹	–	–	۰/۰۲۰	–
تصحیح کلی	۱۶	–	۳۷۴۹/۹۸	–	–	۳۳۷/۵۶	–	–	۵/۰۷	–
R^2	–	۰/۹۹۴	–	–	۰/۹۱	–	–	۰/۹۸۹	–	–
R^2adjusted	–	۰/۹۸۸	–	–	۰/۸۱	–	–	۰/۹۷۶	–	–
CV	–	۱/۳۸	–	–	۶/۸۷	–	–	۰/۹۶	–	–

ns =عدم معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵٪

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

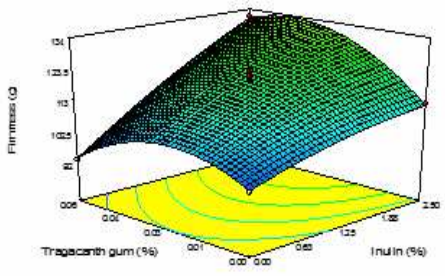
مطابق با پژوهش حاضر رزمخواه و همکاران [۱۹] گزارش کردند که با افزودن صمغ دانه‌های مرو و ریحان و افزایش غلظت آن، میزان سفتی نمونه‌های ماست چکیده بدون چربی تیمار شده با صمغ افزایش یافت. همچنین، نگهداری نمونه‌ها سبب افزایش میزان سفتی گردید.

آقاجانی و همکاران [۳۰] گزارش کردند که تقویت ژل کازئین در اثر اسیدی شدن ثانویه و بازآرایی بعدی کازئین در اطراف باکتری‌های آغازگر و همچنین تولید اگزوپلی‌ساکاریدها توسط این باکتری‌ها از دلایل سفتی بافت ماست در طی دوره نگهداری می‌باشد. همچنین مشاهده شده است که علاوه بر پری‌بیوتیک‌ها، نوع گونه استارتر بکار رفته یا باکتری پروبیوتیک و طول دوره نگهداری نیز می‌تواند نقش مهمی در سفتی بافت ماست ایجاد نماید [۳۱]. از سوی دیگر Paseephol و همکاران [۳۲] گزارش کردند که در نمونه‌های ماست حاوی هیدروکلوئید به دلیل قرارگرفتن پلی‌ساکاریدهای تشکیل دهنده هیدروکلوئید بین میسل‌های کازئین و در نتیجه ایجاد تداخل در تشکیل شبکه سه بعدی پروتئین، ساختار میکروسکوپی درشت‌تری ایجاد می‌شود و همین امر باعث کاهش میزان سفتی بافت می‌شود [۳۲].

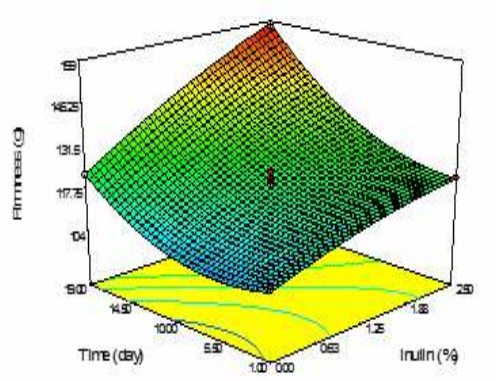
در روش سطح پاسخ برای هر متغیر وابسته مدلی تعریف می‌شود که آثار اصلی و متقابل فاکتورها را بر روی هر متغیر جداگانه بررسی می‌کند. رابطه (۱) نشان دهنده معادله ریاضی درجه دوم بین متغیرهای ورودی و پاسخ در داهی سین‌بیوتیک می‌باشد.

رابطه ۱

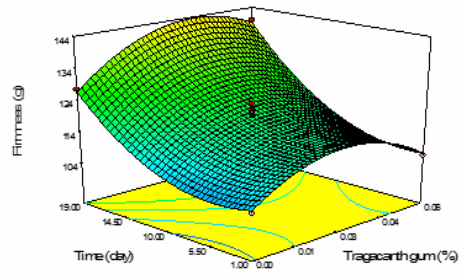
$$Y=12075+1243X_1-3/31X_2+1313X_3-6/34X_1X_2+5/32X_1X_3+2/59X_2X_3-2/12X_1^2-9/88X_2^2+8/89X_3^2$$



شکل ۱ نمایش سه بعدی تأثیر هم‌زمان غلظت اینولین و کتیرا بر سفتی داهی سین‌بیوتیک



شکل ۲ نمایش سه بعدی تأثیر هم‌زمان غلظت اینولین و زمان نگهداری بر سفتی داهی سین‌بیوتیک



شکل ۳ نمایش سه بعدی تأثیر هم‌زمان غلظت کتیرا و زمان نگهداری بر سفتی داهی سین‌بیوتیک

۳-۲- آب‌اندازی

یکی از معایب عمده ماست آب اندازی است که در واقع به ظهور سرم یا آب پنیر در سطح ماست اطلاق می‌شود. آب‌اندازی در ماست به دلیل انقباض ساختار سه بعدی شبکه پروتئینی رخ می‌دهد که منجر به کاهش قدرت اتصال پروتئین‌های آب پنیر و خروج آن از ماست می‌گردد [۳۳].

در جدول ۳ عبارت‌های مدل شامل، میزان کتیرا، میزان اینولین، زمان نگهداری و عبارت‌های درجه دوم میزان اینولین و میزان کتیرا معنی‌دار بودند. عبارت‌های مربوط به اثرات متقابل معنی‌دار نبودند و از مدل حذف شدند به عبارت دیگر هیچ گونه بر هم‌کنشی میان متغیرهای مستقل دیده نشد.

نتایج حاصل از مجموع مربعات مدل نشان داد که تغییرات آب‌اندازی نمونه‌های سین‌بیوتیک بیشتر تحت تأثیر میزان کتیرا قرار می‌گیرد. همچنین با توجه به معنی‌دار بودن اثر متغیرهای مستقل در داهی سین‌بیوتیک می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که تغییرات

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

آب‌اندازی نسبت به غلظت کتیرا، غلظت اینولین و زمان نگهداری حساسیت نشان می‌دهد. اثر مثبت اینولین و زمان نگهداری به خوبی مشخص می‌باشد، چرا که عوامل پری‌بیوتیک، از جمله اینولین، به عنوان جاذب آب عمل کرده و از این رو به عنوان قوام دهنده عمل می‌کنند و از خروج آب جلوگیری می‌کند [٣٤]. مطابق با این نتایج، Gustaw و همکاران [٣٤] با مطالعه‌ای که بر ترکیبات پری‌بیوتیک اینولین و فروکتوالیگوساکارید در ماست انجام دادند به این نتیجه رسیدند که اینولین در طول زمان باعث کاهش آب‌اندازی ماست می‌گردد. عزیزی‌نیا و همکاران [١٨] به این نتیجه رسیدند که، افزودن صمغ کتیرا در غلظت‌های بالاتر از ٠/٥ g/l باعث افزایش آب‌اندازی در ماست شد ، این تفاوت را می‌توان به وسیله اختلاف در ریز ساختارهای شبکه پروتئینی توضیح داد در واقع ساختارهای باز با شبکه درشت‌تر دارای آب-اندازی بیشتری نسبت به ساختارهای ریز می‌باشد [٢٧].

تا غلظت ٠/٠٣٪ کتیرا، ماست دارای بافت متراکمی بوده که می-تواند به علت تجمع کازئین با صمغ باشد، اما با افزایش غلظت صمغ دانسیته ماتریکس ماست کاهش پیدا کرده و به همین دلیل حلقه و فضای بزرگتر در شبکه ماست ایجاد می‌شود [٣٥]. به طور کلی هیدروکلوئیدهای آنیونی دارای گروه‌های کربوکسیل و یا سولفات می‌باشند [٣٦]، صمغ کتیرا از جمله پلی‌ساکاریدهای آنیونی بوده که دارای گروه کربوکسیلیک می‌باشد [٣٥]. پلی-ساکاریدهای آنیونی که می‌توانند با بار مثبت میسل‌های کازئینی واکنش دهند به عنوان پلی‌ساکاریدهای جاذب عمل می‌کنند [٣٧]. با کاهش pH در طول اسیدی شدن و در نتیجه حل شدن فسفات کلسیم، این پلی‌ساکاریدها می‌توانند به میسل‌های کازئینی متصل شوند. و در نتیجه منجر به افزایش حساسیت کازئین به نوآرایی گسترده و تشکیل منافذ بزرگ‌تر و ساختار درشت گردد. بر این اساس استفاده از صمغ کتیرا سبب بهبود بافت و کاهش سینرسیس در ماست کم‌چرب نشد [٣٦].

نتایج حاصل از این تحقیق در ارتباط با تأثیر کتیرا با نتایج گزارش شده توسط رزمخواه و همکاران [١٩] و امیری و همکاران [٣٨] مطابقت نداشت اما با نتایج به‌دست آمده از پژوهش‌های عزیزی-نیا و همکاران [١٨] مطابقت داشت.

رابطه (٢) معادله ریاضی درجه دوم بین متغیرهای ورودی (X) و آب‌اندازی (Y) در داهی سین‌بیوتیک را نشان می‌دهد.

همچنین در جدول ٦-٤ نیز عبارت‌های اثر متقابل و عبارت درجه دوم زمان نگهداری معنی‌دار نبودند و از مدل حذف شدند و رابطه نهایی زیر به دست آمد:

رابطه ٢

$$Y = 26/27 - 2/78X_1 + 2/88X_2 - 2/26X_3 + 2/42X_1^2 + 4/86X_2^2$$

٣-٣- شمارش پروبیوتیکی

قابلیت زیستی و بقاء پروبیوتیک‌ها در فرآورده‌های غذایی در طی دوره نگهداری محصول در درجه اول اهمیت قرار دارد. در فرآورده‌های لبنی تخمیری، فاکتورهایی نظیر گونه مورد استفاده، شرایط کشت، اسیدیته نهایی، مواد جامد شیر، مواد مغذی موجود، اکسیژن محلول، سطح تلقیح و درجه حرارت آن و زمان تخمیر از مهمترین عوامل مؤثر بر بقاء پروبیوتیک‌ها می‌باشند، گزارشات متعدد نشان می‌دهد، که حداقل جمعیت پروبیوتیک‌های زنده در زمان مصرف فرآورده پروبیوتیکی باید 10^6 واحد تشکیل دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر یا گرم باشد [٣٩].

طبق آنالیز واریانس انجام گرفته در جدول ٣ مشاهد شد که اثر خطی میزان کتیرا، اینولین، زمان نگهداری، اثر متقابل آن‌ها و اثر درجه دوم اینولین (X_1^2) در سطح اطمینان ٩٩٪ و اثر درجه دوم زمان نگهداری (X_3^2) در سطح اطمینان ٩٥٪ معنی‌دار بودند. با مقادیر بالای R^2 شاهد برازش مناسب داده‌ها توسط مدل‌های انتخابی بودیم همچنین ضریب تغییرات بسیار پایین در داهی سین‌بیوتیک دلیل دیگری بر این مدعاست که مدل‌ها برازش مناسبی از داده‌ها داشتند.

با توجه به آنالیز داده‌ها مدل نهایی بقای پروبیوتیک‌ها در داهی سین‌بیوتیک به صورت زیر تعیین شد: (رابطه ٣) در واقع پارامترهای مؤثر در مدل‌های به دست آمده با توجه به آنالیز واریانس انجام شده، انتخاب و در مدل نهایی جای‌گذاری شدند.

مدل نهایی بقای پروبیوتیک‌ها در داهی سین‌بیوتیک به صورت رابطه زیر تعیین می‌شود:

رابطه ٣

$$Y = 7/87 + 1/14X_1 + 0/66X_2 - 0/29X_3 - 0/20X_1X_2 + 0/03X_1X_3 - 0/21X_2X_3 + 0/27X_1^2 - 0/11X_3^2$$

همانطور که گفته شد با توجه به این‌که مدل فوق از لحاظ آماری معنی‌دار بوده و دارای عدم برازش غیر معنی‌دار و ضریب تبیین اصلاح شده بالا می‌باشد، می‌توان برای پیش‌بینی تعداد پروبیوتیک از آن استفاده کرد (جدول ٣). تغییرات در شمارش باکتری‌های

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

پروبیوتیکی در داهی سین‌بیوتیک در شکل نشان داده شده است. آنالیزها نشان داد که مقدار باکتری‌های لاکتیک اسید در سطح مورد نیاز بین 10^{9}-10^{6} log cfu/gr می‌باشد.

حضور ترکیبات پری‌بیوتیکی بدلیل تحریک رشد و فعالیت پروبیوتیک‌ها، از مهمترین دلایل بقاء بیشتر باکتری هاست. به عنوان مثال گزارش شده که ترکیب لاکتولوز-اینولین موجب تحریک رشد و بقاء *ل. کازئی* و *ل. اسیدوفیلوس* می‌شود [۳۱]. میرزایی و همکاران [٤٠] گزارش کردند که در بین باکتری‌های پروبیوتیک، بیشترین میزان بقاء به *ل. کازئی* نسبت داده می‌شود ولی تولید مقادیر زیاد اسید توسط باکتری‌های آغازگر ماست و عدم وجود ترکیبات محرک رشد نظیر پری‌بیوتیک‌ها از دلایل کاهش معنی‌دار تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه کنترل است.

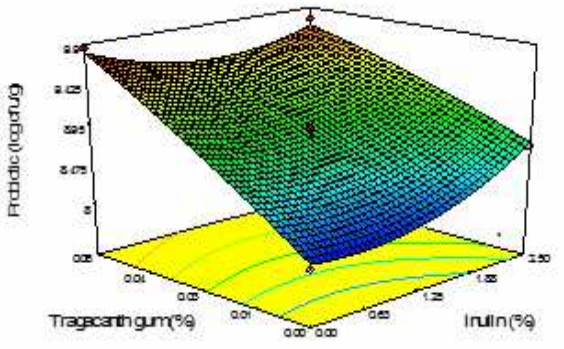
به علت افزایش فعالیت پروتئولیتیکی، اسیدیته زیاد می‌شود و از طرفی *ل. اسیدوفیلوس* تمایل به افزایش بیشتر اسیدیته دارد و همچنین پری‌بیوتیک‌ها باعث کنترل فرآیند پس‌اسیدسازی پروبیوتیک‌ها می‌شوند و از اسیدیته بیش از حد جلوگیری می‌کنند [٤١] و به احتمال زیاد ماندگاری پروبیوتیک‌ها در اسیدیته پایین (pH حدود ٤/٥-٤/٢) بالاتر است [٢٤].

مسعود و همکاران (١٩٩١) حضور *ل. اسیدوفیلوس* و *ل. کازئی* را در داهی ساده گزارش کردند [٤٢]. همچنین، در مطالعه‌ای توسط Sakore و همکاران [٤٣]، کیفیت داهی تولید شده با شیر گاو توسط کشت‌های پروبیوتیک *ل. اسیدوفیلوس* و *ل. دلبروکی* زیر گونه *بولگاریکوس* به تنهایی یا به همراه یکدیگر در مقایسه با داهی شاهد بررسی گردید. نتایج نشان داد که میزان شمارش باکتری‌های لاکتیکی زنده در نمونه حاوی کشت‌های ترکیبی در بالاترین مقدار بود. با توجه به نتایج این محققین نیز می‌توان نتیجه گرفت که رشد باکتری *ل. اسیدوفیلوس* در داهی نسبت به ماست می‌تواند بالاتر باشد. واضح است که با افزایش نسبت اینولین و کتیرا رشد *ل. اسیدوفیلوس* LA-5 افزایش یافته و با گذشت زمان میزان رشد LA-5 کاهش داشته است. اینولین به عنوان پری‌بیوتیک باعث تحریک رشد LA-5 می‌شود و کاهش رشد LA-5 در طول زمان در نتیجه تجمع اسیدهای آلی ناشی از رشد، تخمیر و کاهش میزان مواد مغذی نیازمند برای رشد باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد [٢٠]. اینولین موجب تحریک رشد و فعالیت باکتری‌های آغازگر ماست و همچنین باکتری پروبیوتیک می‌گردد [٤٤].

مطابق با پژوهش حاضر Oliveira و همکاران [١٦]، Gustaw و همکاران [٣٤]، و Donkor و همکاران [٢٠] افزایش بقای پروبیوتیک‌ها به واسطه حضور اینولین به عنوان پری‌بیوتیک را گزارش کردند. اما تاکنون گزارشی مبنی بر افزایش رشد باکتری-های پروبیوتیک در حضور کتیرا گزارش نشده است.

شکل ٤ نشان دهنده تأثیر منفی گذشت زمان بر شمارش پروبیوتیک‌ها می‌باشد در واقع، همانطور که مشاهده می‌شود اگر چه افزایش در میزان کتیرا و اینولین باعث افزایش در شمارش پروبیوتیک‌ها می‌شود اما با گذشت زمان جمعیت پروبیوتیک‌ها کاهش پیدا می‌کند. Dave و Shah [٤٥] گزارش کردند که مهم‌ترین فاکتورهای تأثیر گذار بر رشد *ل. اسیدوفیلوس*، اسیدیته و هیدروژن پراکسید می‌باشند و از عوامل کاهش شمارش و رشد *ل. اسیدوفیلوس* در طی نگهداری می‌باشد.

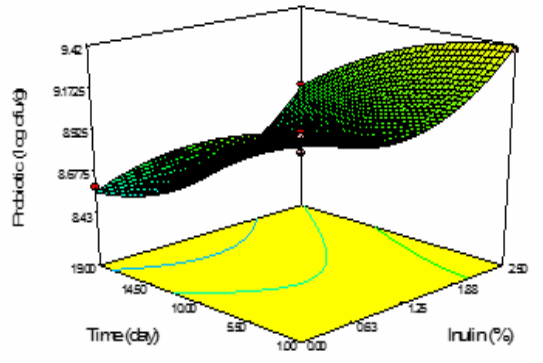
Tamime [٣٩] در پژوهشی نشان داد که گرم‌خانه‌گذاری در دمای بین ٤٠-٣٧ درجه سانتی‌گراد بهترین محدوده دمایی برای رشد سویه‌های پروبیوتیک است.



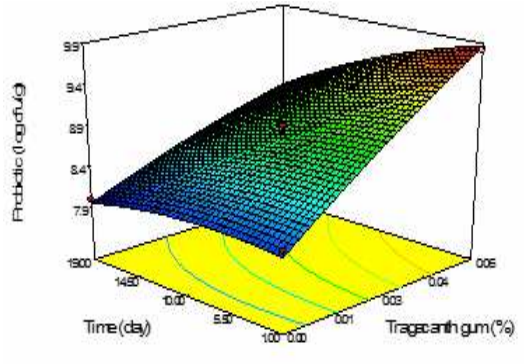
شکل ٤ نمایش سه بعدی تأثیر هم‌زمان غلظت کتیرا و اینولین روی شمارش پروبیوتیکی داهی سین‌بیوتیک

Ostlie و همکاران [٤٦] در مطالعه‌ای که بر تعدادی از سویه-های پروبیوتیکی از جمله *ل. اسیدوفیلوس* و *ل. رامنوس* صورت گرفت، نشان دادند که در بین دماهای ٠، ٣٠، ٣٧ و ٤٥ درجه سانتی‌گراد مورد مطالعه بهترین دما برای رشد سویه‌ها $37^{o}C$ است. با توجه به دمای گرمخانه‌گذاری داهی در $37\ ^{o}C$ می‌توان نتیجه گرفت که داهی محیطی مناسب برای رشد این باکتری‌ها می‌باشد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]



شکل ٥ نمایش سه بعدی اثر متقابل زمان نگهداری و غلظت اینولین بر شمارش پروبیوتیکی داهی سین‌بیوتیک



شکل ٦ نمایش سه بعدی اثر متقابل زمان نگهداری و غلظت کتیرا بر شمارش پروبیوتیکی داهی سین‌بیوتیک

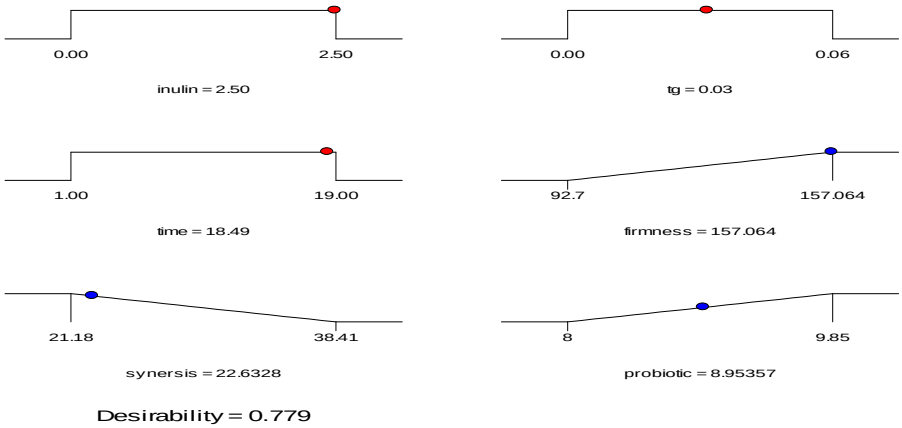
٣-٤- بهینه‌سازی

به منظور بهینه سازی، پارامتر بافت در حداکثر، آب‌اندازی در حداقل و تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در حداکثر در نظر گرفته شد. همچنین متغیرهای مستقل شامل غلظت اینولین و کتیرا و مدت زمان نگهداری در محدوده تعریف شدند. نتیجه حاصل از مدل در جدول ٣ آورده شده است.

برای تعیین اعتبار مدل، آزمایش‌ها تحت شرایط بهینه انجام شد که مقادیر آن در جدول نشان داده شده است. نتایج این آزمایش با نتایج حاصل از تخمین مدل هم‌پوشانی دارد و در نتیجه اثبات می‌کند که مدل قوی است و برای تخمین نتایج آزمایش قابل کاربرد است.

جدول ٤ مقایسه نتایج حاصل از آزمون بهینه انجام شده و نتایج تجربی

داهی سین‌بیوتیک	سفتی(گرم)	آب‌اندازی (٪)	شمارش پروبیوتیکی(log cfu/g)	مطلوبیت
نتایج نرم افزار	١٥٧/٠٦٤	٢٢/٦٣	٨/٩٥	٠/٧٧
نتایج آزمایش	١٥٢/٥٤±٧/٦٢	٢٣/٥٧±١/٤٢	٨/٥٨±٠/٦٨	-



شکل ٧ بهینه‌یابی اثر فاکتورهای مورد بررسی جهت حصول بهترین نمونه داهی سین‌بیوتیک

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

٤- نتیجه‌گیری

روش سطح پاسخ برای تعیین شرایط بهینه‌سازی متغیرهای فرآیند بر تولید داهی سین‌بیوتیک با هدف بیشینه کردن بافت و شمارش پروبیوتیک‌ها و کمینه نمودن آب‌اندازی مورد استفاده قرار گرفت. تجزیه واریانس و نمودارهای سه بعدی، تأثیر برخی فاکتورها را بر روی پاسخ‌ها نشان دادند. نتایج آنالیز واریانس نشان داد اثر ترکیبات اینولین ، کتیرا و زمان بر متغیرهای وابسته معنی‌دار بود و افزایش غلظت کتیرا و اینولین بر شمارش پروبیوتیکی محصول تأثیر مثبت دارد، هرچند در طی زمان شمارش پروبیوتیکی کاهش می یافت. شرایط بهینه با توجه به نتایج به‌دست آمده از انجام آزمایش بهینه، غلظت ۲/۵ درصد اینولین به همراه ۰/۰۳ درصد کتیرا تعیین گردید و فاکتور زمان در روز ۱۸ بهینه شد. مقدار هر یک از پاسخ‌ها در شرایط بهینه به ترتیب شامل سفتی g ۱۵۷/۰٦، آب‌اندازی ۲۲/٦۳٪، شمارش پروبیوتیک‌ها log cfu /g ۸/۹۵ و مطلوبیت ۰/۷۷ تعیین گردید. در این پژوهش نشان داده شد که می‌توان از ترکیب کتیرا و اینولین در تولید داهی و سایر محصولات لبنی تخمیری استفاده کرد.

٥- منابع

[1] Gandahi, D. N. 2006. Food and industrial microbiology of fermented Dairy products. Annual Report, National Dairy Research Institute, 1-31.

[2] Yadav, H., Jain, S. and Sinha, P. R. 2008. Oral administration of dahi containing probiotic *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* delayed the progression of streptozotocin-induced diabetes in rats. Journal Dairy Research, 75:189-95.

[3] Nahar, A., AL-Amin, M., Akter M. and Nahar, N. 2009. Evaluation of the shelf-life of Dahi at different temperature depending on its consistency quality. Bangladesh Research Publications Journal, 3 (2): 897-908.

[4] Allgeyer, L. C., Miller, M. J. and Lee, S. Y. 2010. Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. American Dairy Science Association, 93: 4471–4479.

[5] Boylston, T. R., Vinderola, C. G., Ghoddusi, H. B. and Reinheimer, J. A. 2004. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards. International Dairy Journal, 14: 375-387.

[6] Fooks, L. J., Fuller, R. and Gibson, G. R. 1999. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. International Dairy Journal, 9: 53-61.

[7] Tamime, A.Y. and Robinson, R. K. 2007. Tamime and Robinson's Yoghurt: Science & Technology. 3rd Ed., Woodhead Publishing, Cambridge, 13-124.

[8] Yeganehzad, S., Mazaheri-Tehrani, M. and Shahidi, F. 2007. Studying microbial, physiochemical and sensory properties of directly concentrated probiotic yoghurt. African Journal of Agricultural Research, 2(8): 366-369.

[9] Buriti, F. C. A., Cardarelli H. R., Filisetti, T. M. C. C. and Saad, S. M. I. 2007. Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracaseiin* coculture with *Streptococcus thermophillus*. Food Chemistery Journal, 104: 1605-1610.

[10] Cardarelli, H. R., Saad, S. M. I., Gibson, G. R. and Vulevic, J. 2007. Functional petit-suisse cheese: measure of the prebiotic effect. Anaerobe, 13: 200-207.

[11] Farahnaki, A., Majzobi, M., Mesbahi, Gh. 2010 . The properties of hydrocolloids in food and pharmaceutical applications. 1th Ed., Tabriz, Agriculture science of Iran.

[12] Boeckner, L. S., Schnepf, M. I. and Tungland, B. C. 2000. Inulin: a review of nutritional and health implications. Advances in Food and Nutrition Research, 43: 1–63.

[13] Roberfroid, M. 2002. Functional food concept and its application to prebiotics. Digestive and Liver Disease, 34 (2): 105-110.

[14] Heller, K. J. 2001. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. American Journal of Clinical Nutrition, 73: 374–9.

[15] Ljugnh, A. and Wadstrome, T. 2006. Lactic acid bacteria as probiotics. Intestinal Microbial, 7: 73-90.

[16] Oliveira, R. P. S., Oliveira, P. P. M. N. and Converti, A. 2012. Prebiotic Effect of Inulin on the Growth and Organic Acid Profile of *Bifidobacterium lactis* in Co-culture with

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

[17] Boeni, S. H. and Pourahmad. R. 2012. Use of inulin and probiotic lactobacilli in synbiotic yogurt production. Annals of Biological Research, 3 (7): 3486-3491.

[18] Aziznia, S., Khosrowshahi, A., Madadlou, A. and Rahimi, J. 2007. Whey Protein Concentrate and Gum Tragacanth as Fat Replacers in Nonfat Yogurt: Chemical, Physical and Microstructural Properties. Journal of Dairy Science, 91: 2545–2552.

[19] Razmkhah Sherbyany, S., Razavi, S. M. A., Khalil, B. and Mazaheri Tehrani, M. 2011. Effects of pectin, pellets Mary gum and basil on physicochemical properties and sensory non-fat yogurt. Research Journal of Food Science, 6: 36-40.

[20] Donkor, O. N., Nilmini, S. L. I., Stolic, P., Vasiljevic, T., and Shah, N. P. 2007. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. International Dairy Journal, 17: 657–665.

[21] Samavati, V. and Manoochehrizadeh, A. 2013. *Dodonaea viscosa var. angustifolia* leaf: New source of polysaccharide and its anti-oxidant activity. Journal of Carbohydrate Polymer, 13: 1020-1048.

[22] Kesenkas, H. 2010. Effect of using different probiotic cultures on properties of Torba (strained) yoghurt. Mijekarstvo, 60 (1): 1-19.

[23] Farnsworth, J. P., Lia, J., Hendricks, G. M. and Guo, M. R. 2006. Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. Small Ruminant Research, 65: 113–121.

[24] Lima, K. G. C., Kruger, M. F., Behrens, J., Destro, M. T., Landgraf, M. and Gombossy de Melo Franco, B. D. 2009. Evaluation of culture media for enumeration of *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. LWT-Food Science and Technology, 42: 491–495.

[25] Samavati, V. 2013. Polysaccharide extraction from Abelmoschus: Optimization by response surface methodology. Journal of Carbohydrate Polymers, 95: 588-597.

[26] Koocheki, A., Taherian, A. R., Razavi, S. M. A. and Bostan, A., 2009, Response surface methodology for optimization of extraction yield, viscosity, hue and emulsion stability of mucilage extracted from *Lepidium perfoliatum* seeds. Food Hydrocolloids, 23: 2369–2379.

[27] Puvanenthiran, A., Williams, R. P. W. and Augustin, M. A. 2002. Structure and visco-elastic properties of set yoghurt with altered casein to whey protein ratios. International Dairy Journal, 12: 383–391.

[28] Tamime, A. Y. and Robinson, R. K. 1985. Yogurt science and technology. Oxford: Pergamon Press, 365-373.

[29] Metchinkoff, E. 1907. The prolongation of life; optimistic studies. London: Butterworth Heinemann.

[30] Aghajani, A. S., Pourahmad, R. and Mahdavi, H. D. 2011. The effect of prebiotic compounds on probiotic yogurt containing *Lactobacillus casei*. Food Science and Nutrition, 8 (4):4, 73-82.

[31] Mohebbi, M. and Ghoddusi, H. B. 2008. Rheological & sensory evaluation of yogurts containing probiotic cultures. Journal of Agriculture Science Technology, 10: 147-155.

[32] Paseephol, T., Small, D. and Sherkat, F. 2008. Rheology and texture of set yogurt as affected by inulin addition. Journal of Texture Studies, 39: 617–634.

[33] Hekmat, S. and Reid, G. 2006. Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. Nutrition Research, 26:163-166.

[34] Gustaw, W., Kordowska-Wiater, M. and Kozioł, J. 2011. The Influence of selected prebiotics on the growte of lactic acid bacteria for bio- yoghurt production. Acta Scientiarum Polonorum. Technology Aliment, 10(4): 455-466.

[35] Yokoyama, A., Srinivasan, K. R. and Fogler, H. S. 1988. Stabilization mechanism of colloidal suspensions by gum tragacanth: The influence of pH on stability. Journal of Colloid and Interface Science, 126:141–149.

[36] Syrbe, A., Bauer, W. J. and Klostermeyer, H. 1998. Polymer science concepts in dairy systems and overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. International Dairy Journal, 8:179–193.

[37] Everett, D. W. and McLeod, R. E. 2005. Interactions of polysaccharide stabilizers with *Streptococcus thermophiles*. Chemical Engineering Transactions, 27: 1-6.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt. International Dairy Journal, 15:1175–1183.

[38] Amiri, S., Alami, M. and Rezaei, R. 2009. Effect of physicochemical and sensory properties of a hydrocolloid of *Plantago psyllium* seed on low-fat yogurt. Iranian Food Science and Technology Research Journal, 6(3): 201-209.

[39] Tamime, A.Y. 2005. Probiotic dairy products. Blackwell Publishing, Oxford.

[40] Mirzay, H., Karim, G. and Sodi, M. 2005. Effects of dextrose, glycine, thiamin and temperature on the rate of growth of *Lactobacillus casei*. Iranian Food Science and Technology Research Journal, 2(1): 51-60.

[41] De Souza Oliveira, R. P., Perego, P., Converti, A. and De Oliveira, M. N. 2009. Effect of inulin on growth and acidification performance of different probiotic bacteria in co-cultures and mixed culture with *Streptococcus thermophilus*. Journal of Food Engineering, 91:133–139.

[42] Masud, T., Sultana, K. and Shah. M.A. 1991. Incidence of lactic acid bacteria isolated from indigenous Dahi. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 4(4): 331-329.

[43] Sakore, D. B., Dhole, P. T., Chavan, K. D. and Pawar, B. K. 2007. Role and viability of probiotic cultures in cow milk dahi. Journal of Dairying Foods and Home Sciences, 26 (2): 63-68.

[44] Tabatabaie, F. and Mortazavi, A. 2008. Influence of Lactulose on the survival of probiotic strains in yoghurt. World Applied Sciences Journal, 3(1): 88-90.

[45] Dave, R. I. and Shah, N. P. 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. International Dairy Journal, 7: 31-41.

[46] Ostlie, H.M. and Treimo, A. (2005). Effect of temperature on growth and metabolism of probiotic bacteria in milk. International Dairy Journal, 5: 989 – 997.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

Optimizing of the production process of synbiotic dahi containing *lactobacillus acidophilus*, tragacanth and inulin using Surface Response Methodology

Nikbakht, T.[1], Jooyandeh, H.[2*], Tahmuzi, S.[3], Samavati, V.[3]

1. M.Sc. of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
3. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran

(Received: 93/12/16 Accepted: 94/5/19)

Dahi is a traditional Indian fermented milk product that is similar to plain yogurt in appearance and consistency. As compared to yogurt, dahi has lower acidity, consequently it seems to be more effective in production of probiotic or synbiotic foods. The aim of this study was optimization of the production process and evaluation of physicochemical and microbial properties of synbiotic dahi by response surface methodology (RSM) based on Box Benken Design. Inulin (0-2.5%), tragacanth gum (0-0.06%) and storage time (1-19 days) were the factors that their impacts on the dependent variables were evaluated. In order to optimize variables, three traits including firmness, syneresis and viability of probiotic *Lactobacillus acidophilus* (LA_5) were considered as responses. Finally, the appropriate power and fit of model were indicated based on determination coefficient (R^2), adjusted determination coefficient and coefficient of variation (CV). The determination coefficient (R^2) for firmness, syneresis and microbial counting in synbiotic dahi was obtained 0.99, 0.91, and 0.98, respectively. The increase in the concentration of inulin and storage time led to improve of syneresis and firmness of the products. Also, the increase in concentration of tragacanth up to 0.03% increased firmness, while afterward up to 0.06% concentration caused negative effect and reduced firmness. The increase in concentration of tragacanth and inulin had positive effect on probiotic counting of the products, while storage time had deleterious effect on it. According to the results of optimization experiments, optimal conditions were 2.5% concentration of inulin with 0.03% concentration of tragacanth gum in 18-day holding period.

Keywords: Inulin, Tragacanth, Synbiotic dahi, *Lactobacillus acidophilus*, physicochemical properties

* Corresponding Author E-Mail Address : hosjooy@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]